

Aus dem Institut für Veterinär-Parasitologie der
Freien Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. J. Boch

Untersuchungen über die Wirkung verschiedener chemischer Desinfektionsmittel auf Toxoplasmazysten

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Karl Rainer Sommer

Tierarzt aus Aken

Berlin 1964
Journal Nr. 459

Druck:

ERNST-REUTER-GESELLSCHAFT
der Förderer und Freunde der Freien Universität Berlin e. V.

DISSERTATIONS-DRUCKSTELLE

1 Berlin 33, Garystr. 45

Aus dem Institut für Veterinär-Parasitologie der
Freien Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. J. Boch

Untersuchungen über die Wirkung verschiedener chemischer Desinfektionsmittel auf Toxoplasmazysten

In a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Karl Rainer Sommer

Tierarzt aus Aken

Berlin 1964

Journal Nr. 459

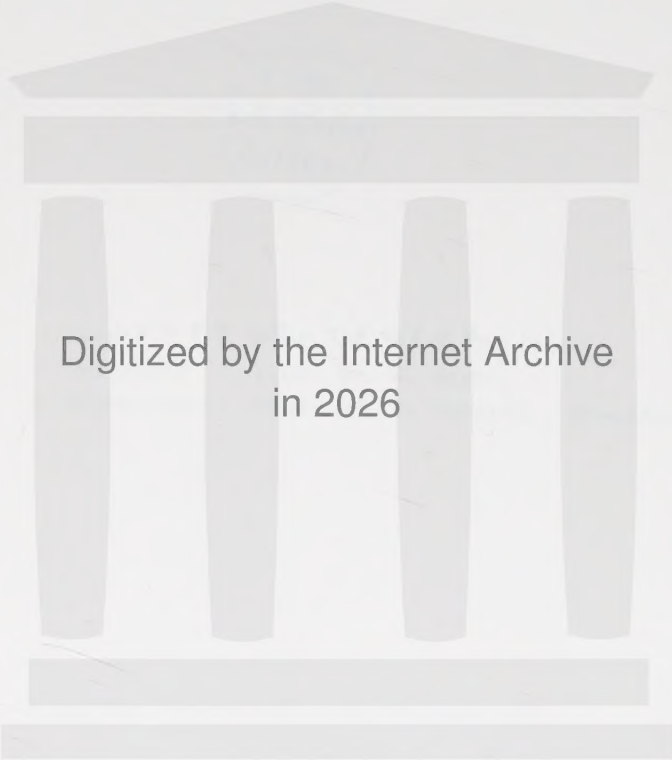
Gedruckt mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen
Fakultät der Freien Universität Berlin



Dekan: Prof. Dr. H.-J. Heidrich
Referent: Prof. Dr. J. Boch
Korreferent: Prof. Dr. F. Schmidt - Hoensdorf

Tag der Promotion: 21. Februar 1964

Meiner Mutter



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	2
II. Bau der Toxoplasmazysten sowie Widerstands- fähigkeit von Einzelparasiten und Zysten gegenüber physikalischen und chemischen Einwirkungen (anhand der Literatur)	3
III. Eigene Untersuchungen	
A. Material und Methodik	13
B. Ergebnisse	16
IV. Besprechung der Ergebnisse	29
V. Zusammenfassung	32
VI. Literaturverzeichnis	33
Lebenslauf	

I. Einleitung

Die Kenntnis der Wirksamkeit chemischer Desinfektionsmittel auf Toxoplasmen ist vor allem in Laboratorien von Bedeutung, um eine gründliche Entkeimung der Arbeitsplätze und Geräte durchführen zu können. In der Literatur findet man aber nur Hinweise über die Wirkung verschiedener Chemikalien auf Einzelparasiten. Da jedoch in vielen Laboratorien mit Toxoplas mazysten gearbeitet wird, ist hier die Anwendung sicher wirkender Desinfektionsmittel erforderlich. Es ist bekannt, daß Zysten verschiedenen Umwelteinflüssen gegenüber resistenter sind als Einzelparasiten. Es könnten also auch die gebräuchlichen Desinfektionsmittel auf Zysten anders wirken als auf freie Toxoplasmen.

Die Befunde von LAINSON (1958) und von HARDING und Mitarb. (1961), die losgelöste Zysten in Alveolen und Bronchiolen von Mäusen bzw. bei Schweinen feststellten, machen ein Auftreten von Zysten in der Außenwelt wahrscheinlich. Es müssen also auch für die eventuelle Desinfektion verseuchter Ställe auf Zysten wirkende Mittel verfügbar sein.

Ich erhielt daher von Herrn Prof. Dr. J. Boch die Aufgabe, verschiedene Desinfektionsmittel auf ihre abtötende Wirkung gegenüber Toxoplas mazysten zu untersuchen.

II. Bau der Toxoplasmazysten sowie Widerstandsfähigkeit von Einzelparasiten und Zysten gegenüber physikalischen und chemischen Einwirkungen (anhand der Literatur)

In den letzten Jahren ist in der recht vielfältigen Literatur über Toxoplasmose eine gewisse Verwirrung in der Bezeichnung der einzelnen Entwicklungsstadien eingetreten. Es ist also notwendig, sich auf eine bestimmte Bezeichnung festzulegen. In dieser Arbeit werden daher grundsätzlich die folgenden von WERNER (1963) vorgeschlagenen und sich allmählich durchsetzenden Bezeichnungen gebraucht:

- 1) Einzelparasiten oder freie Toxoplasmen = sichelförmige bis ovale Einzelorganismen, die vorwiegend in den Körperflüssigkeiten festzustellen sind.
- 2) Pseudozysten = die kurzzeitig im Gewebe vorhandenen Vermehrungsstadien. Sie werden umgrenzt von der Wirtszellwand und können bis zu 100 Erreger enthalten. Wenn diese Parasitenzahl nach einigen Tagen erreicht ist, platzen die Pseudozysten.
- 3) Zysten = die hauptsächlich im Zentralnervensystem vorhandenen Dauerformen. Sie haben eine meist kugelförmige Gestalt und eine deutliche, sehr widerstandsfähige Membran, die von den Parasiten selbst gebildet wird. Zysten können mehrere 1000 Parasiten enthalten.

Die Begriffe "Pseudozyste" und "Zyste" wurden ganz unterschiedlich angewendet. Die Verwirrung entstand dadurch, daß ursprünglich viele Autoren die im Gehirn vorhandenen Dauerformen ebenfalls als Pseudozysten bezeichneten; sie sahen nämlich die Zystenwand als ~~Rest~~membran der von den Parasiten befallenen Wirtszelle an. Dagegen wird heute angenommen, daß die Zystenwand ganz oder teilweise vom Parasiten selbst gebildet wird. Die nunmehr von mir zitierten Arbeiten über Entstehung und Bau der Zysten unterstützen diese Ansicht.

RODHAIN (1950) konnte Zysten vom umgebenden Gewebe befreien, indem er infizierte Gehirne mit Glasperlen schüttelte. Er beschrieb sie als regelmäßige runde oder ovale

Formen mit einer dünnen, doppelt konturierten Membran. Er glaubte bereits damals, daß es sich auf Grund der großen Widerstandsfähigkeit gegen starke mechanische Stöße nur um echte Zysten handeln könne. Diese Meinung änderte er allerdings in einer zweiten Arbeit (RODHAIN und GEREBTZOFF, 1951), in der er mit Hilfe der Silberimprägnation die Natur der Zystenmembran feststellen wollte. Während einige Zystenwände eine starke Affinität zum Silber zeigten, waren andere nur unregelmäßig oder gar nicht gefärbt. Da die Färbbarkeit mit ammoniakalischem Silberkarbonat eine Eigentümlichkeit des Mikrogliegewebes ist, glaubten sie wiederum, daß die Zystenwand mit der Wirtszellmembran identisch sei. Sie bezeichneten daher die umgrenzten Toxoplasmenanhäufungen im Gehirn wieder als Pseudozysten. Auch FRENKEL und FRIEDLANDER (1951) erwähnten die Affinität der Zystenwand zum Silber. Sie glaubten aber, daß sich die Membran vom Parasiten ableitet.

LAINSON (1958) erklärte die unterschiedliche Färbbarkeit mit ammoniakalischem Silberkarbonat damit, daß verschiedene Restmengen der Wirtszellmembran am Aufbau der Zystenwand beteiligt sind. Aus den folgenden Befunden glaubte er schließen zu können, daß die Strukturen im Gehirn echte Zysten sind: Er konnte nie Reste des Zellkernes oder des Cytoplasmas in den Zysten sehen. Dies gelang ihm auch nicht bei den kleinsten Zysten mit zwei bis fünfzig Toxoplasmen, die er am 8. Tage nach der Infektion im Gehirn fand. Die Wand dieser kleinen Formen war schon viel elastischer und dicker als eine Zellmembran. Im Gegensatz zu einer Zellwand wurde sie mit der Vermehrung der Toxoplasmenmasse nicht dünner, sondern wies immer die gleiche Dicke auf. Die Zysten waren dabei immer rund, elastisch und sehr schwer einzureißen. Er konnte auch Zysten sehen, deren Kapsel innerhalb der Wirtszelle lag. LAINSON (1958) ist der Ansicht, daß auch bei chronischen Infektionen zunächst im Gehirn

Pseudozysten, wie bei akuten Fällen, und erst später echte Zysten vom Parasiten selbst gebildet werden.

VAN DER WAAIJ (1959) wandte die Azanfärbung zum Nachweis von Bindegewebe an der Zystenwand an. Mit der durch Markany modifizierten Methode von Holzer wollte er Gliagewebe und mit dem Verfahren von Bodian Neurofibrillen nachweisen. Alle Färbungen hatten negative Ergebnisse. Auch er nimmt an, daß die Zystenwand wahrscheinlich vom Parasiten gebildet wird.

Nach MATSUBAYASHI und AKAO (1963) wird die begrenzende Membran, wie Untersuchungen von Toxoplasmen des Beverley-Straßes in einer Gewebekultur ergaben, durch sezernierte Präzipitate verstärkt.

Über den Feinbau der Zystenwand geben zwei elektronenmikroskopische Untersuchungen Aufschluß. GARNHAM und Mitarb. (1962) beschrieben eine gezackte Oberfläche der Zysten im Gehirn chronisch infizierter Mäuse und unterschieden eine nichte 5 - 10 m μ dicke äußere und eine granuliert 200 - 400 m μ dicke innere Schicht. WANKO und Mitarb. (1962) konnten in Gehirnen chronisch infizierter Mäuse zwei verschieden große Typen von Zysten unterscheiden. In der kleinen Zystenart waren wenige Parasiten lose aneinander gelagert. Zwischen den Einzelorganismen befand sich eine amorphe Masse, die mit der Wand in Verbindung stand. In den großen Zysten dagegen waren die Toxoplasmen dicht aneinander gelagert. Zystenwand und Septen hatten eine kompaktere Struktur. Bei beiden Zystenarten bestand die Zystenwand aus Anhäufungen bläschenartiger Teilchen, die in eine undurchsichtige Masse eingebettet waren. Letztere soll ein Produkt der Parasiten sein. Auf der Oberfläche sichtbare gewundene Strukturen wurden als Teile des endoplasmatischen Retikulums der Wirtszelle gedeutet.

Außerhalb des Wirtsorganismus haben freie Toxoplasmen nur eine kurze Lebensdauer. Verschiedene physikalische Einwirkungen töten sie schnell ab. DAUER (1952) stellte

fest, daß Toxoplasmen in Ascitesflüssigkeit, die mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt worden war, durch kurzes Aufkochen sicher abgetötet werden, bei 60° , 70° und 80° C 10 Minuten nicht überleben. ORLANDELLA (1957) bestätigte diese Ergebnisse, da die Erreger bei 50° C nach 10 - 20 Minuten, bei höheren Temperaturen schon nach 5 Minuten nicht mehr infektiös waren. Ähnliches berichteten RIFAAT und MORSY (1963). Auch nach MANWELL und DROBECK (1951) überlebten Toxoplasmen im Peritonealexsudat eine Temperatur von 55° C über 5 Minuten nicht.

Bei niederen Temperaturen sind Toxoplasmen länger haltbar. In Versuchen von ORLANDELLA (1957) waren sie bei 37° C nach 8 - 12 Stunden, bei 21° - 23° C nach 5 - 6 Tagen nicht mehr lebensfähig. Nach RIFAAT und MORSY (1963) dagegen halten sie sich bei 37° C bis zu 36 Stunden, bei Raumtemperatur bis zu 9 - 10 Tagen infektiös. Bei Aufbewahrung im Kühlschrank (4° C) sterben die Parasiten erst nach 14 Tagen ab. (EAUER, 1952; GALUSZKA und SZAFIARSKI, 1962; GEISLER, 1955 a). Temperaturen von -18° C vertragen die Erreger nach RIFAAT und MORSY (1963) 7 - 8 Tage, nach GLISSLER (1955 a) bei langsamem Einfrieren allerdings nur 24 Stunden.

Längere Überlebenszeiten erzielte MRÁZ (1961), der in seinen Versuchen reines Peritonealexsudat verwandte. Bei Zimmertemperatur waren die Organismen maximal bis zu 18 Tagen, bei 3° - 5° C sogar bis zu 32 Tagen lebensfähig. Bei -6° C bis -8° C waren sie bis zum 7. Tage, bei zweimaligem Auftauen nur 5 Tage infektiös. Ein entsprechendes Ergebnis erhielt MÜLLER (1955), der ebenfalls unverdünntes Peritonealexsudat bei 4° C 4 1/2 Wochen lang infektiös halten konnte.

Trotz der Empfindlichkeit der Einzelparasiten gegenüber tiefen Temperaturen gelang es, die Erreger durch bestimmte Zusätze längere Zeit zu konservieren. ROGER und ROGER (1957) bewahrten mit isotonischer

Zuckerlösung verdünntes Peritonealexsudat bei $- 35^{\circ} \text{C}$ auf. Erst nach einem Monat waren alle Erreger abgestorben. REUSSE (1956), sowie LYLES und Mitarb. (1956) froren verdünntes Peritonealexsudat mit 5 - 10% Glycerinzusatz bei $- 70^{\circ} \text{C}$ ein. REUSSE (1956) lagerte die Proben eine Woche und konnte nach dieser Zeit bei Mäusen stets akute Infektionen hervorrufen. LYLES und Mitarb. (1956) konnten die Toxoplasmen bis 209 Tage am Leben erhalten. CHANDLER und WEINMAN (1956) konservierten die Erreger mit einem 15%igen Glycerinzusatz bei $- 70^{\circ} \text{C}$ bis zu 184 Tagen. Hierbei trat jedoch ein großer Verlust an Parasiten auf. Die Lyophilisation dagegen versagte (GEISLER, 1955 b).

Änderungen des osmotischen Druckes vertragen die freien Parasiten schlecht. In Aqua dest. sowie in Leitungswasser sind sie bei Zimmertemperatur zwar noch nach 7, aber nicht mehr nach 10 Minuten virulent (SIMITCH und Mitarb., 1956).

Sehr empfindlich sind die Einzelparasiten auch gegenüber Eintrocknung. MANWELL und Mitarb. (1945) stellten fest, daß Einzelparasiten im getrockneten Gewebe bei Zimmertemperatur nach 24 Stunden nicht mehr lebten. WILDFÜHR (1956) fand, daß eingetrocknetes Exsudat bei einer Temperatur von 4°C nach 12, jedoch nicht mehr nach 24 Stunden infektiös war. bei Zimmertemperatur aufbewahrtes Material war bis zu 8 Stunden infektiös. 37°C überlebten die Toxoplasmen nur eine Stunde lang.

Andererseits konnte die Lebensdauer der Einzelparasiten in vitro durch Zusatz verschiedener Medien verlängert werden. EICHENWALD (1948) berichtete, daß toxoplasmanhaltige Milch bei einer Temperatur von 3°C bis zu 8 Tagen infektiös blieb. Sie verlor aber ihre Infektiosität in 15 Minuten bei 50°C und in 10 Minuten bei 54°C . Diese Ergebnisse entsprechen denen bei Aufbewahrung in physiologischer Kochsalzlösung. DE ROEVER - BONNET (1960) erklärte das Ergebnis von EICHENWALD (1948) damit, daß sich in der Milch

nur wenige Parasiten im Vergleich zu den Versuchen mit physiologischer Kochsalzlösung befanden. Sie erhielt längere Lebenszeiten bei in Milch suspendierten Parasiten. Ebenfalls lebensverlängernd wirkten 1%ige frische Mäusegehirnemulsion und 10%iges normales menschliches Serum. Fleischbrühe, 1% Rinderalbumin und Magermilch wirkten weniger gut. Physiologische Kochsalzlösung wurde als ungeeignet bezeichnet. Ähnlich waren die Versuchsergebnisse von JACOBS und Mitarb. (1952). LUND und Mitarb. (1960) fanden dagegen keinen schützenden Effekt von Fleischbrühe oder Magermilch, bestätigten indessen die gute Wirkung von insbesondere proteinreichen Seren. VASINA und DUNAEVA (1960) setzten der Ascitesflüssigkeit defibriniertes Kaninchenblut zu. Das Gemisch blieb im Kühlschrank bei 4° C bis zum 30. Tage, das mit menschlichem Spenderblut vermischte Exsudat bis zum 45. Tage infektiös.

Es wurde auch festgestellt, daß Einzelparasiten durch UV-Bestrahlung schnell vernichtet werden (GALUSZKA, 1962). In einer Entfernung von 40 cm von der Quarzlampe waren die in physiologischer Kochsalzlösung, in Tyrodelösung oder in Hanks's Pufferlösung suspendierten Toxoplasmen nach 25 Minuten abgestorben. Nur die in Rinderserum befindlichen Parasiten riefen noch nach 60 Minuten langer Bestrahlung akute Erkrankungen bei weißen Mäusen hervor.

Durch den Einfluß der ionisierenden Elektronenstrahlen werden die Einzelparasiten und Zysten in einer Gehirnsuspension sicher abgetötet, wenn sie einer Bestrahlungsdosis von 15 400 bzw. 14 900 rad ausgesetzt werden. Dagegen werden die Zysten im Gehirngewebe durch eine Dosis von 22 000 rad noch nicht alle abgetötet (KOBAYASHI und JACOBS, 1963).

Die Toxoplasmazysten waren in den Versuchen von JACOBS und Mitarb. (1960) manchen Umwelteinflüssen gegenüber erwartungsgemäß resistenter als die freien Formen der Parasiten. So töteten höhere Temperaturen Zysten weniger schnell ab. Bei 50° C waren sie erst nach 30 Minuten,

bei 56° C nach 10 Minuten vernichtet. Bei einer Lagerung im Kühlschrank (4° C) blieb zystenhaltige Gehirnemulsion bis zu 68 Tagen, dagegen Gehirngewebe bei -15° C weniger als 24 Stunden infektiös. In destilliertem Wasser behielten die Zysten zwar ihre Form oder quollen etwas auf, aber überlebten nur 10, zum Teil 30 Minuten. Auch die Widerstandsfähigkeit von Zysten gegenüber Eintrocknen wurde geprüft. Im trockenen Medium waren sie schon nach einem Tage bei $18^{\circ} - 20^{\circ}$ C nicht mehr infektiös.

Nach SCHMIDTKE (1954) wurden die freien Parasiten durch Magensäfte mit einem p_H 3,1 - 1,1 in weniger als 20 Minuten vernichtet, mit einem p_H 3,7 und höher blieben die Erreger bis zu 2 1/2 Stunden lebensfähig. Ähnliche Werte erhielt WILDFÜHR (1956) mit freien Toxoplasmen. In seinen Versuchen tötete Magensaft bei einer Azidität von 21 - 40 nach 30 Minuten, und von 41 - 50 nach 20 Minuten alle Parasiten ab.

Als wesentlich resistenter erwiesen sich die Toxoplasmazysten gegenüber der Einwirkung von Magensaft (FRANZIS und Mitarb., 1960). Sie untersuchten den Einfluss von künstlicher Pepsin - HCl-Lösung. Isolierte Zysten konnten erst nach 2 Stunden keine Infektion mehr hervorgerufen, obwohl die Zystenwand schnell zerstört wurde, während Zysten in Hirnsuspensionen mehr als 3 Stunden überlebten. In Trypsinlösung waren Zysten nach 3 Stunden noch virulent, freie Parasiten aber nicht mehr.

Mehrere Untersuchungen befaßten sich auch mit dem Überleben von Toxoplasmen in den Geweben nach dem Tode des Wirtsorganismus. Fast alle diese Versuche wurden mit Organen von Tieren durchgeführt, die an einer akuten Infektion gestorben waren (Einzelparasiten). MESNIL und CARNAILLE (1913) verimpften Peritonealexsudat gestorbener Mäuse, die bei Raumtemperatur aufbewahrt worden waren. Sie konnten nach einer Latenzzeit von 12 und 30 Stunden Mäuse infizieren, erhielten jedoch auch negative Ergebnisse nach 14 und 30 Stunden. SABIN und OLITSKY (1937) konnten mit einem infizierten Mäusegehirn, das 14 Tage im Kühlschrank lag,

Mäuse anstecken. MANWELL und Mitarb. (1945) erwähnten, daß die Parasiten in infizierten Geweben nach 24 stündiger Aufbewahrung im Kühlschrank noch lebensfähig waren, selten aber nach 48 Stunden. Zu gleichen Resultaten kam WINNERS (1952). FINKERTON und HENDERSON (1941) konnten Toxoplasmen im Gehirn eines Menschen, das in Glycerin im Kühlschrank bei 5° C aufbewahrt wurde, 8 Tage lang lebensfähig erhalten. KEAN und GROCOTT (1948) konnten Meerschweinchen mit Gehirnemulsion eines Kindes infizieren, dessen Leiche 31 Stunden bei 0° - 4° im Kühlschrank gelegen hatte.

CHRISTIANSEN und SILM (1951) isolierten Toxoplasmen durch Verimpfen von Milzsuspensionen toter Hasen. Dies gelang ihnen aber nur, wenn die toten Hasen nicht länger als 24 Stunden aufbewahrt wurden. Dagegen konnten MANWELL und DROBECK (1951) infizierte Mäusegehirne, die in Magermilch lagen, im Kühlschrank mindestens 18 Tage lang infektiös erhalten. GEISLER (1955a) bewahrte Leber, Lunge und Herz von akut erkrankten Mäusen im Kühlschrank bei 4° C auf. Während dieses Organmaterial sich nur 2 Tage infektiös erhalten ließ, wies toxoplasmahaltiges Mäusegehirn unter den gleichen Bedingungen noch nach 7 Tagen lebende Erreger auf. SIMITH und Mitarb. (1956) stellten fest, daß die Parasiten in den Kadavern von Ziesel (Citellus citellus) 2 Tage bei Zimmertemperatur und mehr als 4 Tage bei 4° C lebensfähig blieben. Die bei 4° C in physiologischer NaCl-Lösung aufbewahrte Milz war bis zum 4. Tage infektiös. KÄSS (1955), der die Lebensdauer der freien Toxoplasmen in Mäuseleichen, die nach einer Infektion mit dem RH-Stamm gestorben waren, untersuchte, verimpfte vor allem das Gehirn. Bei 4° C waren Toxoplasmen nach 8 Tagen, bei 16 - 20° C nach 3 Tagen und bei 37° C nur noch nach eintägiger Lagerung ansteckend. In einem weiteren Versuch zeigte sich, daß Mäuseleichen bei - 10° C nach 12 und 16 Stunden lebende Erreger enthielten. Verimpfen von Milzgewebe dagegen ergab seltener positive Ergebnisse.

In einigen Geweben halten sich die Toxoplasmen noch länger lebensfähig als im Gehirn. MC FARLANE und RUCHMAN (1948) konnten in Eihäuten von Hühnerembryonen nach einmonatiger Lagerung im Kühlschrank noch lebensfähige Parasiten feststellen.

Auch in den Geweben chronisch erkrankter Tiere (Zysten) bleiben die Parasiten länger am Leben. So überdauerten sie im Gehirn von Schweinen 30 Tage, in entzündetem Muskelgewebe 10 Tage bei einer Lagerungstemperatur von 2° - 5° C. (WEINMANN und CHANDLER, 1956). Nach JACOBS und MELTON (1957) hat eine 6 Wochen dauernde Lagerung von zystenhaltigem Gehirn in Fleischbrühe bei 4° C nicht den Verlust der Infektiosität zur Folge.

Die Wirksamkeit chemischer Desinfektionsmittel

wurde bisher, soweit uns bekannt, nur bei Einzelparasiten geprüft. MANWELL und Mitarb. (1945) untersuchten die desinfizierende Wirkung von 70%igem Äthylalkohol und 5%igem Phenol. Als Ausgangsmaterial dienten ihnen dabei feine, stark toxoplasmenhaltige Organzerreibungen von Leber oder Gehirn. Nach Einwirkungszeiten von einer bis zehn Minuten wurden die Parasiten mehrmals auszentrifugiert, mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und der Bodensatz an Mäuse intraperitoneal verimpft. Die Gehirne und die Lebern dieser Mäuse wurden nach einer Beobachtungszeit von meistens 30 oder 39 Tagen mikroskopisch auf das Vorhandensein von Toxoplasmen untersucht. Nach einer Einwirkungszeit von 10 Minuten waren sowohl bei 70%igem Äthylalkohol als auch bei 5%iger Phenollösung alle Erreger abgetötet.

Umfangreichere Versuche zur Prüfung der Widerstandsfähigkeit der freien Parasiten gegen chemische Desinfektionsmittel führte BAUER (1952) durch. Er spülte die Bauchhöhle akut erkrankter Mäuse mit physiologischer Kochsalzlösung aus und vermischte diese toxoplasmenhaltige Spülflüssigkeit mit Desinfektionsmitteln. Die Wirkung der Desinfektionsmittel wurde bei kurzen Einwirkungszeiten durch Zugabe von physiologischer Kochsalzlösung aufgehoben. Bei längerer Dauer wurde die Zeit des ersten Zentrifugierens mit als Einwirkungs-

zeit angesehen. Durch zweimaliges Zentrifugieren mit physiologischer Kochsalzlösung wurde der Bodensatz ausgewaschen und nach Resuspendierung intraperitoneal an Mäuse verimpft. Der Nachweis von Toxoplasmen erfolgte durch mikroskopische Untersuchung der Bauchhöhlenspülflüssigkeit der Mäuse, die in Abständen von 3 Tagen getötet wurden. Von den geprüften Chemikalien vernichteten Cialit 1:10 000 und Debacil 1:1 die Parasiten nach 30 Sekunden, Salzsäure 1:100 und Cialit 1:20 000 nach 1 Minute, Osmaron B 1:100 und Cialit 1:100 000 nach 5 Minuten, Natronlauge 1:100, Alkohol 1:1 und Phenol 1:100 nach 10 Minuten, Phenol 1:200 nach 15 Minuten, Formalin 1:100 und 1:50 nach 20 Minuten und Mepharol 1:2 000 nach 30 Minuten.

KNAPP (1953) prüfte, ob die gebräuchlichen Händedesinfektionsmittel Sagrotan, Zephirol und Chloramin die Toxoplasmen sicher abtöten. Ausgangsmaterial war wieder eine toxoplasmenhaltige Spülflüssigkeit der Bauchhöhle von Mäusen. Durch Zugabe von physiologischer Kochsalzlösung hob er die Wirkung der Desinfektionsmittel auf. Diese Mischung wurde einmal zentrifugiert und das Sediment auf Mäuse intraperitoneal übertragen. Der Infektionsnachweis durch Untersuchung des Peritonealexsudates war in den Versuchen mit höheren Desinfektionsmittelkonzentrationen schwierig, weil teilweise nur eine keimschädigende Wirkung vorhanden war, so daß die Mäuse erst nach längerer Inkubationszeit oder überhaupt nicht erkrankten (latente Infektion). Ließen sich in der Bauchhöhle keine Toxoplasmen nachweisen, so wurden Tierpassagen angelegt, die im positiven Falle spätestens bei der dritten Passage den Parasitennachweis ermöglichten. Durch Sagrotan, Zephirol und Chloramin in 0,5%iger und 2%iger Konzentration konnte nach 2 bzw. 5 minütiger Einwirkungszeit keine sichere Abtötung der Erreger erreicht werden, obwohl diese Mittel in 2%iger Lösung nach 5 Minuten zu einer starken Schädigung der Parasiten führten. Ein Versuch mit ausgewaschenen Toxoplasmen brachte das gleiche Ergebnis.

III. Eigene Untersuchungen

A. Material und Methodik

Für die Prüfung der Widerstandsfähigkeit von Toxoplasmasystemen gegenüber Desinfektionsmitteln wurden Vertreter verschiedener Chemikaliengruppen ausgewählt:

- 1) Äthylalkohol 70 % und 96 %.
- 2) Cialit = Äthylmercurimerkaptobenzoxazol-5-karbonsaures Natrium in Verdünnungen von 1:5000, 1:10000 und 1:20000.
- 3) Iephirol = ein Gemisch hochmolekularer Alkyl-dimethylbenzyl-ammoniumchloride, 1 % und 2 %.
- 4) Chloramin 2 % und 4 %.
- 5) Formalin in Verdünnungen von 0,5 %, 1 % und 2 %.
- 6) Lysoformin 1 % und 2 %.
- 7) Ätznatron in Konzentrationen von 0,5 %, 1 %, 2,5 % und 5 %.
- 8) Eimeran = ein Gemisch, das im wesentlichen aus organisch gebundenem Schwefel und den chlorierten Anteilen eines Steinkohlenteerpräparates besteht, 5 % und 10 %.
- 9) Dekaseptol = eine Schwefelkohlenstoffemulsion mit Rohkresolzusatz, 6 % und 12 %.
- 10) Terpipetrol = ein zusammengesetztes Präparat mit den Hauptbestandteilen o,o-Dichlorbenzol und Schwefelkohlenstoff, 5 % und 10 %.

In den Versuchen wurden neben dem aus einem Hunde isolierten Toxoplasmastamm (BOCH und ROMMEL, 1963) mehrere aus Schlachtschweinen isolierte Stämme (BOCH, ROMMEL und JANITSCHKE, 1964) verwendet. Sie zeigten eine geringe Virulenz für Mäuse und bildeten reichlich Zysten in Mäusegehirnen.

Zur Zystengewinnung wurden Mäuse mit je 0,5 ccm zystenhaltiger Gehirnsuspension intraperitoneal beimpft. Diese Suspension stellte ich durch Schütteln eines infizierten Gehirns mit 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung in einer Schüttelflasche mit Glasperlen her, wie es RODHAIN (1950) beschrieben hatte. Grundsätzlich wurden 2500 I.E. Penicillin und Streptomycin in 0,5 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung zugegeben. Diese Antibiotika wurden in physiologischer Kochsalzlösung gelöst, um die Toxoplasmazysten nicht durch eine eventuelle Veränderung des osmotischen Druckes zu schädigen. 5 Wochen nach der künstlichen Infektion tötete ich die Mäuse, entnahm steril das Gehirn und untersuchte ein kleines Stück des Gehirngewebes mikroskopisch auf Toxoplasmazysten. Es wurden jeweils 3 zystenhaltige Gehirne nach Zugabe von 8 ccm physiologischer

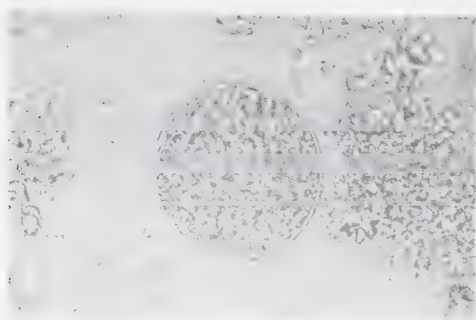


Abb. : Zyste in einer Gehirnsuspension. Orig. 480 x vergr.

Kochsalzlösung in einer Schüttelflasche etwa 2 Minuten lang geschüttelt. Dadurch waren in der Gehirnsuspension die etwa 30 - 40 μ großen Zysten vom umgebenden Gewebe befreit (Abb.).

Zur Prüfung der Widerstandsfähigkeit der Toxoplasmazysten wurden zunächst 2 ccm dieser Gehirnsuspension mit 2 ccm des Desinfektionsmittels gemischt. Die dabei entstandenen Konzentrationen der Desinfektionsmittel werden in den eigenen Ergebnissen aufgeführt. Nur beim Alkohol wurde die vor dem Vermischen vorhandene Konzentration gewertet. Während der Einwirkungszeit wurde die Mischung von Gehirnsuspension und Desinfektionsmittel gerührt, um Niederschläge und Verklumpen möglichst zu vermeiden. Die Wirkung der Chemikalien wurde dann durch Hinzugeben von 180 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung unterbrochen. Damit lag das Desinfektionsmittel in einer 45 mal geringeren Konzentration vor. Nach 8 Minuten langem Zentrifugieren bei 3000 Umdr./Min. goß ich die Flüssigkeit ab, suspendierte den Bodensatz erneut in 180 ccm physiologischer Kochsalzlösung und zentrifugierte nochmals 8 Minuten lang bei 3000 Umdr./Min.. Eimeran und Terpipetrol erforderten ein dreimaliges Auswaschen.

Dieser Bodensatz wurde nunmehr in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. Davon verimpfte ich je 0,5 ccm mit je 500 I.E. Penicillin und Streptomycin intraperitoneal an 3 Mäuse. Es wurden nur 16 - 20 g schwere Mäuse eines auf Toxoplasmosefreiheit geprüften NMRI-Stammes benutzt. Die Tiere erhielten Altromin-Standard-Diät. Zu je 9 Versuchstieren setzte ich in einen Makrolonkäfig eine nicht beimpfte Kontrollmaus sowie ein positives Kontrolltier, durch welches die Infektiosität der Gehirnsuspension nochmals geprüft wurde. Bei diesen positiven Kontrollen wurden der infektiösen Gehirnsuspension anstatt des Desinfektionsmittels 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung zugesetzt.

Nach 30 Tagen wurde den Mäusen aus der Schwanzvene Blut

entnommen und serologisch im Sabin-Feldman-Test untersucht. Alle bei einer Verdünnung von 1 : 4 positiven Seren wurden in Verdünnungen bis zu 1 : 4000 angesetzt und nach ROMMEL und MÜLLER (1963) ausgewertet. War das Ergebnis der serologischen Untersuchung auch eindeutig, so überprüfte ich durch Gehirnquetschpräparate alle Mäuse mikroskopisch auf das Vorhandensein von Zysten. Zeigten Tiere einen niedrigeren Titer als 1 : 4000, so wurde der SFT nach 14 Tagen wiederholt. Falls auch dann kein eindeutiges serologisches Ergebnis vorlag, wurde mit der Gehirnsuspension eine 2. Passage angelegt. Da ich diese Mäuse der 2. Passage wieder nach 30 Tagen serologisch und mikroskopisch untersuchte, erhielt ich dann immer ein eindeutiges Ergebnis. Starben die Mäuse vor der Blutentnahme, ohne daß Toxoplasmen nachzuweisen waren, wurde der Versuch wiederholt.

Die nicht beimpften Kontrollen blieben stets im SFT negativ und ohne Zysten im Gehirn. Dagegen entwickelten die positiven Kontrollen immer einen Titer von mindestens 1 : 4000 und zeigten stets Zysten im Gehirnquetschpräparat.

B. Ergebnisse

Wegen der größeren Resistenz der Zysten wurden in den Versuchen zuerst längere Einwirkungszeiten geprüft als die aus der Literatur für freie Toxoplasmen bekannten. Meist waren aber nach diesen Zeiten die Zysten abgetötet und riefen keine Infektionen bei Mäusen hervor. Daraufhin wurden dann kürzere Zeiten untersucht.

1) Äthylalkohol

Toxoplasmazysten wurden 70 %igem und 96 %igem Äthylalkohol verschieden lange (1/2 bis 15 Minuten) ausgesetzt (Tab. 1).

Konzentration	Einwirkungszeit in Minuten	Anzahl der Versuchsmäuse	Ergebnis der serolog. Untersuchung (SFT) 1:4000	neg.	Zysten im Gehirn	
					+	-
70 %	1/2	6		6		6
	2	5		5		5
	5	6		6		6
	10	3		3		3
	15	3		3		3
	pos. Kontr.	3	3		3	
	neg. Kontr.	3		3		3
96 %	1/2	6		6		6
	2	6		6		6
	5	3		3		3
	10	3		3		3
	15	3		3		3
	pos. Kontr.	3	3		3	
	neg. Kontr.	3		3		3

Tabelle 1: Wirkung von Äthylalkohol auf Toxoplasmazysten (in einer Gehirnsuspension).

Äthylalkohol erwies sich als sehr gutes Desinfektionsmittel, da beide Konzentrationen Zysten bereits nach einer halben Minute sicher abtöten.

2) Cialit

Dieses Desinfektionsmittel wurde deshalb geprüft, weil es Einzelparasiten sehr schnell abtötet. Die desinfizierende Wirkung beruht auf der Abspaltung stark antiseptisch wirkender Merkuri-Ionen. Wegen seiner Verträglichkeit dient Cialit

Konzentration	Einwirkungszeit in Minuten	Anzahl der Versuchsmäuse	Ergebnis der serolog. Untersuchung (SFT)		Kysten im Gehirn	
			1:4000	neg.	+	-
1:5000	15	1	1		1	
	30	2	2		2	
	40	3	3		3	
	50	3	3		3	
	pos. Kontr.	2	2		2	
	neg. Kontr.	2		2		2
1:10000	1	2	2		2	
	2	2	2		2	
	5	2	2		2	
	30	3	3		3	
	40	3	3		3	
	50	3	3		3	
	pos. Kontr.	2	2		2	
	neg. Kontr.	2		2		2
1:20000	1	1	1		1	
	15	2	2		2	
	pos. Kontr.	2	2		2	
	neg. Kontr.	2		2		2

Tabelle 2: Wirkung von Cialit auf Toxoplasma-
zysten (in einer Gehirnemulsion).

auch als Konservierungsmittel für Seren und Impfstoffe. Die verwendeten Lösungen von 1:5000, 1:10000 und 1:20000 wurden

kurz vor Gebrauch frisch mit abgekochtem Aqua bidest. zubereitet. Sie zeigten keine abtötende Wirkung auf die Toxoplasmazysten (Tab. 2).

Dieses Ergebnis ist besonders bemerkenswert, da Cialit in Toxoplasmose-Untersuchungslabors und Kliniken speziell zur Desinfektion verwendet wird. Die Versuche wurden nach 50 Minuten langer Einwirkungszeit abgebrochen, da eine desinfizierende Wirkung nach noch längerer Zeit keinen praktischen Wert mehr hätte.

3) Zephirol

Zephirol hat als Invertseife eine stark bakterizide Wirksamkeit und gilt daher als gutes Desinfektionsmittel. Es wird vielfach als Händedesinfektionsmittel verwendet. Die Ergebnisse der Versuche mit Zephirol sind in Tab. 3 zusammengefaßt.

Konzentration	Einwirkungszeit in Minuten	Anzahl der Versuchsmäuse	Ergebnis der serolog. Untersuchung (SFT)		Zysten im Gehirn	
			1:4000	neg.	+	-
1 %	1/2	2	2		2	
	2	3	2	1	2	1
	5	3		3		3
	10	3		3		3
	15	3		3		3
	pos. Kontr.	2	2		2	
	neg. Kontr.	2		2		2
2 %	1/2	3		3		3
	2	3		3		3
	5	3		3		3
	10	3		3		3
	15	3		3		3
	pos. Kontr.	2	2		2	
	neg. Kontr.	2		2		2

Tabelle 3: Wirkung von Zephirol auf Toxoplasmazysten (in einer Gehirnemulsion).

Auf Toxoplasmazysten wirkte die 1%ige Lösung erst nach 5 Minuten mit Sicherheit abtötend, während 2 Minuten nicht ausreichten. Dagegen vernichtete die 2%ige Lösung schon nach einer halben Minute alle Zysten.

4) Chloramin

Chloramin spaltet in wäßriger Lösung freies Chlor ab. Darauf beruht seine desinfizierende Wirkung. Da Toxoplasmazysten im allgemeinen als relativ widerstandsfähig gelten, verwendete ich eine 2 und 4%ige Lösung für die Versuche und ließ sie teilweise bis zu 20 bzw. 30 Minuten auf die Gehirnemulsion einwirken (Tab. 4).

Konzentration	Einwirkungszeit in Minuten	Anzahl der Versuchsmäuse	Ergebnis der serolog. Untersuchung (SFT)		Zysten im Gehirn	
			1:4000	neg.	+	-
2 %	1/2	3		3		3
	2	3		3		3
	5	3		3		3
	10	3		3		3
	20	3		3		3
	30	3		3		3
	pos. Kontr.	2	2		2	
	neg. Kontr.	2		2		2
4 %	1/2	3		3		3
	2	3		3		3
	5	3		3		3
	10	3		3		3
	20	3		3		3
	pos. Kontr.	2	2		2	
	neg. Kontr.	2		2		2

Tabelle 4: Wirkung von Chloramin auf Toxoplasmazysten (in einer Gehirnemulsion).

Es erwies sich als ausgezeichnetes Desinfektionsmittel gegen Toxoplasmazysten, da es sowohl in 2%iger als auch in 4%iger Lösung alle Erreger bereits nach einer halben Minute abtötete.

5) Formalin

Formalin ist eine wäßrige Lösung von 35% Formaldehyd.

Konzentration	Einwirkungszeit in Minuten	Anzahl der Versuchsmäuse	Ergebnis der serolog. Untersuchung (SFT)		Zysten im Gehirn	
			1:4000	neg.	+	-
0,5 %	1	3	3		3	
	5	3	1	2	1	2
	10	3		3		3
	15	4		4		4
	20	3		3		3
	pos. Kontr.	2	2		2	
	neg. Kontr.	2		2		2
1 %	1	3	3		3	
	2	3	3		3	
	5	3		3		3
	10	3		3		3
	15	3		3		3
	20	3		3		3
	pos. Kontr.	2	2		2	
2 %	neg. Kontr.	2		2		2
	1/2	2			2	
	1	2		2		2
	5	3		3		3
	10	2		2		2
	pos. Kontr.	2	2		2	
	neg. Kontr.	2		2		2

Tabelle 5: Wirkung von Formalin auf Toxoplasmazysten (in einer Gehirnemulsion).

Es wird trotz seines stechenden Geruches und seiner lokalen Reizwirkung wegen seiner stark bakteriziden Wirkung immer noch häufig für die Desinfektion von Ställen, Geräten usw. verwendet. Es wurden Verdünnungen von 0,5 - 2 % geprüft (Tab. 5).

Formalin konnte 0,5%ig erst nach 10 Minuten, 1%ig nach 5 Minuten und in 2%iger Lösung nach 1 Minute die Toxoplasmazysten abtöten. Es ist also 2%ig zur Desinfektion von toxoplasmainfizierten Geräten gut geeignet.

6) Lysoformin

Da dieses Mittel nicht die unangenehmen Nebenwirkungen von Formalin zeigt, wird es heute häufig an Stelle von Formalin angewendet. Die desinfizierende Wirkung beruht auf der Abspaltung von Formaldehyd. Es hatte jedoch eine

Konzentration	Einwirkungszeit (Minuten)	Anzahl der Verdünnungen	Ergebnis der serolog. Untersuchung (SPT) (1:1000) neg.	Typen in Befund
1 %	1	1	1	1
	2	2	2	2
	3	3	3	3
	4	4	4	4
	5	5	5	5
	10	10	10	10
0,5 %	1	1	1	1
	2	2	2	2
	3	3	3	3
	4	4	4	4
	5	5	5	5
	10	10	10	10

Tabelle 6: Wirkung von Lysoformin auf Toxoplasmazysten (in einer Gehirnsuspension).

viel schlechtere Wirkung auf Toxoplasmazysten als Formalin (Tab. 6).

In 1%iger Lösung zeigte es erst nach 50 Minuten eine gewisse Wirkung. Von den 3 Versuchstieren waren 2 im SFT und bei der mikroskopischen Untersuchung negativ. Auch bei einer Konzentration von 2 % wurden die Zysten erst nach 25 Minuten dauernder Einwirkung sicher vernichtet. Lysoformin ist daher zur Desinfektion gegen Toxoplasmazysten ungeeignet.

7) Ätznatron

Ätznatron ist speziell bei der amtlichen Tierseuchenbekämpfung ein recht wirksames und gleichzeitig billiges Desinfektionsmittel. In meinen Versuchen wurde es 0,5-, 1-, 2,5- und 5%ig angewendet (Tab. 7).

Es erwies sich auch für Toxoplasmazysten als brauchbares Desinfektionsmittel. So starben Zysten in 0,5- und 1%iger Lösung nach 5 Minuten, in 2,5- und 5%iger Lösung bereits nach einer halben Minute ab.

Konzentration	Einwirkungszeit in Minuten	Anzahl der Versuchsmäuse	Ergebnis der serolog. Untersuchung (SFT)		Zysten im Gehirn	
			1:4000	neg.	+	-
0,5 %	1/2	2	2		2	
	2	3	2	1	2	1
	5	5		5		5
	10	2		2		2
	20	2		2		2
	pos. Kontr.	2	2		2	
	neg. Kontr.	2		2		2
1 %	1/2	3	2	1	2	1
	2	2	2		2	
	5	2		2		2
	pos. Kontr.	2	2		2	
	neg. Kontr.	2		2		2
2,5 %	1/2	2		2		2
	2	2		2		2
	5	3		3		3
	10	2		2		2
	20	2		2		2
	pos. Kontr.	2	2		2	
	neg. Kontr.	2		2		2
5 %	1/2	3		3		3
	2	3		3		3
	5	2		2		2
	10	3		3		3
	20	3		3		3
	pos. Kontr.	2	2		2	
	neg. Kontr.	2		2		2

Tabelle 7: Wirkung von Ätznatron auf Toxoplasmazysten (in einer Gehirnemulsion).

8) Eimeran

Eimeran dient ebenso wie Dekaseptol und Terpipetrol der Abtötung der sehr widerstandsfähigen Kokzidienoozysten und Askarideneier. Seine Anwendung gegen Toxoplasmazysten war daher besonders interessant. In diesen Versuchen mußte der Bodensatz dreimal ausgewaschen werden, da sich immer wieder Verklumpungen bildeten. Nach einer Einwirkungszeit von nur einer halben Minute waren im Mäuseversuch bei 5- und 10%igen Lösungen keine lebenden Toxoplasmen mehr nachzuweisen. (Tab.8)

Konzentration	Einwirkungszeit in Minuten	Anzahl der Versuchsmäuse	Ergebnis der serolog. Untersuchung (SFT)		Zysten im Gehirn	
			1:4000	neg.	+	-
5 %	1/2	3		3		3
	2	3		3		3
	5	6		6		6
	10	3		3		3
	15	3		3		3
	30	3		3		3
	pos. Kontr.	3	3		3	
	neg. Kontr.	3		3		3
10 %	1/2	3		3		3
	2	3		3		3
	5	3		3		3
	15	3		3		3
	30	3		3		3
	pos. Kontr.	2	2		2	
	neg. Kontr.	2		2		2

Tabelle 8: Wirkung von Eimeran auf Toxoplasmazysten (in einer Gehirnsuspension).

Eimeran ist also zur Desinfektion bei Toxoplasmoseverdacht geeignet.

9) Dekaseptol

Dekaseptol, eine Schwefelkohlenstoffemulsion mit Rohkresolzusatz, ist ebenfalls ein bewährtes Mittel zur Desinfektion von Tierställen und Ausläufen. Es hat eine recht gute Wirksamkeit gegen dickschalige Helmintheneier und Kokzidienoozysten, die anderen Chemikalien gegenüber oft recht resistent sind. Dekaseptol wurde in den eigenen Versuchen in 6 und 12%iger Lösung bei 1, 2 bis 30 Minuten langer Einwirkungsdauer angewandt (Tab.9).

Konzentration	Einwirkungszeit in Minuten	Anzahl der Versuchsmäuse	Ergebnis der serolog. Untersuchung (SFT)		Zysten im Gehirn	
			1:4000	neg.	+	-
6 %	1/2	3		3		3
	2	3		3		3
	5	3		3		3
	15	3		3		3
	30	3		3		3
	pos. Kontr.	2	2		2	
	neg. Kontr.	2		2		2
12 %	1/2	3		3		3
	2	3		3		3
	5	2		2		2
	15	3		3		3
	pos. Kontr.	2	2		2	
	neg. Kontr.	2		2		2

Tabelle 9: Die Wirkung von Dekaseptol auf Toxoplasmazysten (in einer Gehirnemulsion).

Tabelle 9 zeigt, daß bereits nach einer halben Minute alle Protozoen vernichtet wurden.

10) Terpipetrol

Das im wesentlichen o, o-Dichlorbenzol und Schwefelkohlenstoff enthaltende Terpipetrol hat sich in den letzten 3 Jahren als Desinfektionsmittel für Stallungen und Hühnerausläufe bewährt. In den vorliegenden Versuchen mußte es wie Eimeran dreimal auszentrifugiert werden, da es sich nach zweimaligem Auswaschen immer noch teilweise im Bodensatz befand. Die geprüften 5 und 10%igen Lösungen wirkten schon nach einer halben Minute sicher abtötend auf Toxoplasmazysten (Tab.10).

Konzentration	Einwirkungszeit in Minuten	Anzahl der Versuchsmäuse	Ergebnis der serolog. Untersuchung (SFT) 1:4000		Zysten im Gehirn	
				neg.	+	-
5 %	1/2	3	2	3	2	3
	2	3		3		3
	5	3		3		3
	10	3		3		3
	20	3		3		3
	pos. Kontr.	2				
	neg. Kontr.	2		2		2
10 %	1/2	3	2	3	2	3
	2	3		3		3
	5	3		3		3
	10	2		2		2
	20	3		3		3
	pos. Kontr.	2				
	neg. Kontr.	2		2		2

Tabelle 10: Wirkung von Terpipetrol auf Toxoplasmazysten (in einer Gehirnemulsion).

Die Versuche in ihrer Gesamtheit haben ergeben, daß Toxoplasmazysten wenig widerstandsfähig gegenüber den meisten Desinfektionsmitteln sind. Viele der gebräuchlichen Mittel töten sie schon in kürzester Zeit sicher ab (Tab. 11).

Lfd.Nr.	Desinfektionsmittel	Konzentration	Einwirkungs- dauer (Min.) für sichere Abtötung von Toxoplasma- zyten	Zur Desin- fektion ge- eignet
1.	Äthylalkohol	70%	1/2	+
		96%	1/2	+
2.	Cialit	1:5000 - 1:20000	über 50	-
3.	Zephirol	1%	5	-
		2%	1/2	+
4.	Chloramin	2%	1/2	+
		4%	1/2	+
5.	Formalin	0,5%	10	-
		1%	5	-
		2%	1	+
6.	Lysoformin	1%	über 50	-
		2%	25	-
7.	Ätznatron	0,5%	5	-
		1%	5	-
		2,5%	1/2	+
		5%	1/2	+
8.	Eimeran	5%	1/2	+
		10%	1/2	+
9.	Dekaseptol	6%	1/2	+
		12%	1/2	+
10.	Terpipetrol	5%	1/2	+
		10%	1/2	+

Tabelle 11: Zusammenfassende Darstellung der Wirksamkeit der geprüften Desinfektionsmittel auf Toxoplasmazysten.

IV. Besprechung der Ergebnisse

Es war das Ziel der Versuche, schnell und sicher wirkende Desinfektionsmittel gegen Toxoplasmazysten zu finden. Ich verwendete als Testmaterial toxoplasmazystenhaltige Gehirnsuspension, obwohl sie eine optimale Wirkung der Chemikalien nicht zuläßt. Die Zysten wurden zwar durch Schütteln mit Glasperlen vom umgebenden Gewebe befreit, befanden sich aber in einem für ihr Fortbestehen sehr günstigen Medium. Es besteht immer die Möglichkeit, daß durch Ausfällung eiweißhaltiger Bestandteile die Wirkung von Desinfektionsmitteln eingeschränkt wird.

Wenn man die von mir gefundenen Ergebnisse mit den in der Literatur angegebenen Werten über die Widerstandsfähigkeit der Einzelparasiten vergleicht, fällt die geringere Resistenz der Zysten gegenüber einigen Desinfektionsmitteln auf. Einzelparasiten widerstanden in den Versuchen von BAUER (1952) Alkohol-, Formalin- und Natronlaugeeinwirkungen länger als die Zysten in den vorliegenden Versuchen. MANWELL und Mitarb. (1945) hatten bereits mit 70%igem Äthylalkohol die gleichen Ergebnisse wie später BAUER (1952) erzielt. Auch den von KNAPP (1953) gefundenen Überlebenszeiten der freien Toxoplasmen bei Einwirkung von Zephirol und Chloramin steht eine schnellere Abtötung der Zysten in meinen Versuchen gegenüber. Diese Befunde sind überraschend, zumal aus der Literatur bekannt ist, daß Zysten im allgemeinen physikalischen Einwirkungen gegenüber widerstandsfähiger sind als freie Toxoplasmen (JACOBS und Mitarb., 1960).

Die unterschiedlichen Ergebnisse lassen sich allerdings durch die verschiedenen Versuchsmethoden nicht erklären. Während ich in Anlehnung an KNAPP (1953) nach Beendigung der vorgesehenen Einwirkungszeit grundsätzlich physiologische Kochsalzlösung zugab, tat dies BAUER (1952) nur bei den weniger als 5 Minuten dauernden Versuchen. Bei längerer Dauer rechnete er die Zeit des ersten Zentrifugierens mit als Einwirkungszeit, wobei die Desinfektionsmittel

möglicherweise nicht mehr voll auf alle im Bodensatz sich befindenden Parasiten einwirken konnten. Dabei wurde die Lebensfähigkeit der den Desinfektionsmitteln ausgesetzten Toxoplasmen durch den Tierversuch geprüft. Während LANWELL und Mitarb. (1945) Leber und Gehirn der Mäuse 30 - 39 Tage nach der Beimpfung auf Einzelparasiten untersuchten, führten die anderen Autoren den Parasitennachweis durch Prüfung der Bauchhöhlenspülflüssigkeit. So konnte KNAPP (1953) die Erreger bei höheren Desinfektionsmittelkonzentrationen zum Teil erst nach 3 Passagen nachweisen. Die Tiere waren nach seiner Meinung durch die geschädigten Toxoplasmen nur latent infiziert worden. Die Autoren führten jedoch serologische Untersuchungen nicht durch. Es besteht so einmal die Möglichkeit, daß latente Infektionen übersehen wurden, zum anderen, daß der benutzte Mäusestamm nicht toxoplasmosefrei war.

Im Gegensatz hierzu nahm ich immer die serologische Untersuchung neben dem mikroskopischen Parasitennachweis vor. In Übereinstimmung mit den Beobachtungen von ROMMEL und MÜLLER (1963) waren bei Mäusen mit einem SFT - Titer von 1 : 4000 stets Zysten im Gehirn nachzuweisen. Zeigten einige Mäuse niedrigere Titer (bis 1: 256), so verschwanden diese bei der zweiten serologischen Untersuchung nach zwei Wochen in der Regel. Hierbei konnten nie Zysten nachgewiesen werden. Auch die zur Sicherheit angelegten Passagen verliefen stets negativ. Diese niedrigen Titer waren wahrscheinlich durch abgetötete Toxoplasmen verursacht worden. In ähnlicher Weise stellten ja KUNERT und SCHMIDTKE (1954) und FOLKERS (1962) bereits fest, daß Mäuse und Meerschweinchen bzw. Schweine nach der Beimpfung mit abgetöteten Einzelparasiten vorübergehend Antikörper bildeten.

Da auch die Gehirne der im SFT negativ gebliebenen Mäuse sorgfältig im frischen Quetschpräparat untersucht wurden, konnte ich umgekehrt nie feststellen, daß intakte oder durch Desinfektionsmittel geschädigte Parasiten in

Mäusegehirnen Zysten bildeten, ohne daß der SFT positiv wurde. Diese sehr zeitraubenden Untersuchungen wurden grundsätzlich durchgeführt. DEANE und NUSSENZWEIG (1959) hatten nämlich nach Verfüttern oder Verimpfen von zerriebenen toxoplasmainfizierten Arthropoden häufig bei negativem SFT im Gehirn Zysten feststellen können. Freilich bewiesen sie nicht eindeutig, daß die gesehenen Parasiten tatsächlich Toxoplasmen waren, da in der Arbeit weder Mengenangaben angegeben noch Abbildungen beigelegt sind.

Von den geprüften Chemikalien eignen sich für die Hände - und Instrumentendesinfektion 70%iger und 96%iger Alkohol sowie 2%iges Zephirol. Cialit 1 : 10 000, das nach BAUER (1952) gegen Einzelparasiten ausgezeichnet wirkt, ist zur Desinfektion zystenhaltigen Materials unbrauchbar. Es ist zudem sehr teuer und recht umständlich herzustellen, denn es muß in Aqua bidest. gelöst werden. Bemerkenswert ist ferner die bedeutend schlechtere Wirkung des Lysoformin auf Zysten, im Vergleich zu Formalin. Dies erklärt sich wohl dadurch, daß aus dem Lysoformin erst die wirksame Formaldehyd abgespalten wird.

Zur Grobdesinfektion eignen sich am besten 1%iges Chloramin und 2,5%iges Ätznatron. Den ebenfalls gut gegen Toxoplasmazysten wirkenden Desinfektionsmitteln Dekaseptol, Eimeran und Terpipetrol sind jedoch wegen ihres unangenehmen Geruches in der Anwendung in Labors Grenzen gesetzt.

Abschließend kann gesagt werden, daß Toxoplasmazysten, die sich nach JACOBS und Mitarb. (1960) bei Lagerung, höheren Temperaturen und Einwirkung von Magensäften widerstandsfähiger als die Einzelparasiten erwiesen, den meisten Desinfektionsmitteln gegenüber sich nicht resistenter zeigten. Sie wurden teilweise in wesentlich kürzerer Zeit abgetötet.

V. Zusammenfassung

Es wurden 10 verschiedene Desinfektionsmittel in unterschiedlichen Konzentrationen auf ihre Wirksamkeit gegenüber Toxoplasmazysten untersucht. Als Ausgangsmaterial diente zystenhaltige Gehirnemulsion von Mäusen.

Äthylalkohol 70% und 96%, Zephirol 2%, Chloramin 2%, Ätznatron 2,5%, Eimeran 5%, Terpitrol 5% und Dekaseptol 6% töten Toxoplasmazysten in 30 Sekunden, Formalin 2% in einer Minute mit Sicherheit ab. Als ungeeignet erwiesen sich Lysoformin 2% und Cialit in der Verdünnung von 1: 5000.

VI. Literaturverzeichnis

1. Bauer, F. Toxoplasma gondii - Untersuchungen über Widerstandsfähigkeit gegen physikalische und chemische Einflüsse.
Z. Tropenmed. Parasit. 3, 497-499, (1952)
2. Doeh, J., u. M. Rommel: Serologische Untersuchungen an Berliner Hunden auf Toxoplasmose.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 76, 292-296, (1963)
3. Doeh, J., M. Rommel u. K. Janitschke: Beiträge zur Toxoplasmose des Schweines II. Untersuchungen von Schlachtschweinen auf Toxoplasma-infektionen.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 77, (im Druck), (1964)
4. Chandler, A.H., u. D. Weinman: Prolonged storage of toxoplasma at -70°C .
Amer. J. Clin. Path. 26, 323-326, (1956)
5. Christiansen, M., u. J.C. Siim: Toxoplasmosis in hares in Denmark.
Lancet 260, 1201-1203, (1951)
6. Deane, M.P., u. R.S. Nussenzweig: Observations on the diagnosis of chronic toxoplasma infection in mice.
Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo 1, 119-128, (1959)
7. Eichenwald, H.: Experimental toxoplasmosis.
Amer. J. Dis. Child. 76, 307-315, (1948)
8. Eyles, D.E., M. Coleman u. D.J. Javanaugh: Preservation of Toxoplasma gondii by freezing.
J. Parasit. 42, 408-419, (1956)
9. Frenkel u. Friedlander (1951)
zitiert nach Lainson (1958)
10. Folkers, C. Studies on toxoplasmosis in pigs with special reference to pathogenicity and immunity.
Vet. med. Diss., Utrecht, (1962)
11. Galuszka, J. Wpływ promieniowania ultrafioletowego na przeżywalność Toxoplasma gondii in vitro w różnych środowiskach płynnych.
Wiad. Parazyt. 8, 297-305, (1962)

12. Galuszka, J., u. J. Szaflarski: Badania nad zjadliwością toksoplazm przechowywanych in vitro.
Wiad. Parazyt. 8, 525-530, (1962)
13. Garnham, P.C.C., J.R. Baker u. R.G. Bird: Fine structure of cystic form of *Toxoplasma gondii*.
Brit. med. J. Nr. 5271, 83-84, (1962)
14. Geissler, H. Untersuchungen über die Toxoplasmose beim Huhn unter besonderer Berücksichtigung der Serodiagnostik.
Zbl. Vet.-Med. 2, 25-28, (1955)
15. Geissler, H. Erhaltung der Lebensfähigkeit der Toxoplasmen.
Zbl. Bakt. I. Orig. 164, 134-136, (1955)
16. Harding, J.D.J., J.K.A. Beverley, I.G. Shaw, B.L. Edwards u. G.H. Bennett: *Toxoplasma* in english pigs.
Vet. Rec. 73, 3-6, (1961)
17. Jacobs, L., F.E. Jones u. M.L. Melton: The survival of *Toxoplasma gondii* in various suspending media.
J. Parasit. 38, 293-297, (1952)
18. Jacobs, L., u. M.L. Melton: Studies on the resistance of pseudocysts of *Toxoplasma gondii*.
J. Parasit. 43, (Suppl.), 38, (1957)
19. Jacobs, L., J. Remington u. M.L. Melton: The resistance of the encysted form of *Toxoplasma gondii*.
J. Parasit. 46, 11-21, (1960)
20. Käss, E. The viability of *Toxoplasma* in mouse carcass.
Acta path. microbiol. scand. 36, 84-88, (1955)
21. Kean, B.H., u. R.G. Grocott: Congenital toxoplasmosis.
J. Amer. Med. Ass. 136, 104-108, (1948)
22. Knapp, W. Über Desinfektionsversuche am Erreger der Toxoplasmose.
Zbl. Bakt. I. Orig. 159, 226-231, (1953)
23. Kobayashi, A., u. L. Jacobs: The effect of irradiation on *Toxoplasma gondii*.
J. Parasit. 49, 814-818, (1963)
24. Kunert, H., u. L. Schmidtke: Zum Nachweis der Toxoplasmainfektion im Tierversuch.
Z. Tropenmed. Parasit. 5, 58-61, (1954)
25. Lainson, R. Observations on the development and nature of pseudocysts and cysts of *Toxoplasma gondii*.
Trans. Roy. Soc. trop. Med. Hyg. 52, 396-407, (1958)

26. Lund, E., E. Lycke u. E. Hahn: Stability of *Toxoplasma gondii* in liquid media.
Acta path. microbiol. scand. 2, 99-104, (1960)
27. Mc Farlane, I.O., u. J. Ruchman: Cultivation of *Toxoplasma* in the developing chick embryo.
Proc. Soc. exp. Biol. 67, 1-4, (1948)
28. Manwell, R.D., E. Coulston, E.C. Binckley u. V.P. Jones: Mammalian and avian *toxoplasma*.
J. Inf. Dis. 76, 1-14, (1945)
29. Manwell, R.D., u. H.P. Drobeck: Mammalian toxoplasmosis in birds.
Exp. Parasit. 1, 83-93, (1951)
30. Matsubayashi, H., u. S. Akao: Morphological studies on the development of the *Toxoplasma* cyst.
Amer. J. trop. Med. Hyg. 12, 321-333, (1963)
31. Mesnil, F., u. Sarrailhé, A.: *Toxoplasmose expérimentale de la souris: passage par les muqueuses; conservation du virus dans le cadavre.*
C. R. Soc. Biol. 74, 1325-1327, (1913)
32. Möller, A. Ergebnisse tierexperimenteller und diagnostischer *Toxoplasmose*untersuchungen.
Deutsches Gesundheitswesen 10, 1163-1174, (1955)
33. Mráz, J. Preživání *Toxoplasma gondii* in vitro.
Čsl. Parasit. 6, 165-172, (1961)
34. Orlandella, V.: Ricerche sulla resistenza del *Toxoplasma* sottoposto a temperature varie.
Acta Med. Vet. (Neapel) 3, 79, (1957)
Ref.: Die Veterinärmedizin 13, 574, (1960)
35. Pinkerton, H., u. R.G. Henderson: Adult toxoplasmosis.
J. Amer. Med. Ass. 116, 807-814, (1941)
36. Reuße, U. Konservierung einiger tierpathogener Protozoen durch Aufbewahrung bei tiefen Temperaturen.
Z. Tropenmed. Parasit. 7, 99-109, (1956)
37. Rifaat, M.A., u. T.A. Morsy: Resistance of *Toxoplasma gondii* to external environmental factors.
J. trop. Med. Hyg. 66, 178-180, (1963)
38. Rodhain, J. Formation des pseudokystes au cours d'essais d'immunité croisée entre souches différentes de toxoplasmes.
C.R. Soc. Biol. 144, 719-722, (1950)
39. Rodhain, J., u. M.A. Gerebtzoff: Au sujet de la membrane limitant les pseudokystes des toxoplasmes.
C.R. Soc. Biol. 145, 766-768, (1951)

40. Roever - Bonnet, H. De, : Influence of a few fluid media on *Toxoplasma* parasites.
Trop. geogr. Med. 12, 71-81, (1960)
41. Roger, F., u. A. Roger: Premiers résultats concernant la congélation de *Toxoplasma gondii*.
Bull. Soc. Path. exot. 50, 208-211 (1957)
42. Rommel, M., u. I. Müller: Serologische Studien an Mäusen nach experimenteller Infektion mit einem *Toxoplasma*stamm vom Hund.
Z. Parasitenk. 23, 360-366, (1963)
43. Sabin, A.B., u. P.K. Olitsky: *Toxoplasma* and obligate intracellular parasitism.
Science 85, 336, (1937)
44. Schmidtke, L. Zur oralen Übertragbarkeit der *Toxoplasma*se.
Zbl. Bakt. I. Orig. 160, 470-478, (1954)
45. Simitch, T., Z.L. Petrovitch u. A. Bordjochki: *Citellus citellus* animal de choix pour l'étude biologique et l'isolement de *Toxoplasma gondii*.
Arch. Inst. Pasteur Algér. 34, 93-99, (1956)
46. Van der Waaij, D.: Formation, growth and multiplication of *Toxoplasma gondii* cysts in mouse brains.
Trop. geogr. Med. 11, 345-360, (1959)
47. Wanko, T., L. Jacobs u. M.A. Gavin: Electron microscope study of *Toxoplasma* cysts in mouse brain.
J. Protozool. 9, 235-242, (1962)
48. Vasina, S.G., u. Z.V. Dunaeva: Odlitel nosti sochranenija toksoplazm vne organizma chozjaina.
Med. Parazit. (Moskau) 29, 451-454, (1960)
49. Weinman, D., u. A.H. Chandler: *Toxoplasmosis* in man and swine - an investigation of the possible relationship.
J. Amer. Med. Ass. 161, 229-232, (1956)
50. Werner, H. Zur Terminologie der Entwicklungsstadien von *Toxoplasma gondii*.
Zbl. Bakt. I. Orig. 188, 121-131, (1963)
51. Wildführ, G. Experimentelle Versuche zur Resistenz der *Toxoplasmen*.
Z. Hyg. 143, 134-139, (1956)
52. Winsser, J. Die *Toxoplasma*se.
Ergebn. Hyg. Bakt. 27, 1-93, (1952)

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn
Prof. Dr. J. Boch, möchte ich an die-
ser Stelle für die Überlassung des
Themas und die jederzeit gewährte Un-
terstützung ergebenst danken.

Lebenslauf

Am 30. November 1938 wurde ich, Karl Rainer Sommer, als Sohn des Deichrentmeisters Karl Sommer und seiner Ehefrau Margot geb. Voigt in Aken/Elbe geboren.

Von 1944 bis 1946 besuchte ich die Grundschule in Aken und von 1946 bis 1952 in Zerbst. Anschließend kam ich auf die Oberschule in Zerbst, wo ich im Jahre 1956 die Reifeprüfung ablegte. Im Herbst 1956 wurde ich an der Humboldt - Universität in Berlin immatrikuliert. Ich studierte dort zwei Semester Mathematik und Physik. Im September 1957 bestand ich das Ergänzungsabitur in Westberlin.

Im Wintersemester 1957/58 begann ich das veterinärmedizinische Studium an der Freien Universität Berlin, bestand das Physikum im Herbst 1959 und das Staatsexamen im Dezember 1962. Vom Juli 1963 bis zum Januar 1964 leistete ich an der Klinik für Geburtshilfe und Kleintierkrankheiten der Freien Universität Berlin meine Praktikantenzeit ab.

